

**Ромашина Д. Д., Бахтин В.М., Изможерова Н.В.
РОЛЬ БЕЛКОВЫХ КАНАЛОВ TRPM6 И TRPM7 В
ТРАНСМЕМБРАННОМ ПЕРЕНОСЕ МАГНИЯ**

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Romashina D. D., Bakhtin V.M., Izmozherova N.V.
ROLE OF TRPM6 AND TRPM7 PROTEIN CHANNELS IN
TRANSMEMBRANE TRANSFER OF MAGNESIUM**

Chair of Pharmacology and Clinical Pharmacology
Ural State Medical University
Yekaterinburg, the Russian Federation

E-mail: daryaromashina@gmail.com

Аннотация. В данной статье проведен обзор и анализ литературы по исследованию происхождения, функций и свойств белков TRPM6 и TRPM7, а также их роль в транспорте магния и влияние на обмен веществ в клетке. Результаты исследований показали, что изучаемые белки играют критическую роль в магниевом захвате и являются одними из ведущих белков переносчиков магния.

Annotation. This article provides a review and analysis of literature on the origin, functions and properties of TRPM6 and TRPM7 proteins, as well as their role in magnesium transport and effect on cell metabolism. The research results showed that the proteins under study play a critical role in magnesium uptake and are among the leading ones in magnesium transport.

Ключевые слова: магний, TRPM6, TRPM7, шанзимы, трансмембранный транспорт.

Key words: magnesium, TRPM6 and TRPM7 protein channels, chanzymes, transmembrane transport.

Введение

Магний – важнейший элемент, обеспечивающий активность ферментов, ионных каналов, участвующий в процессах биосинтеза ключевых молекул обмена веществ, метаболических и сигнальных путях клетки [12]. Нарушение транспорта Mg^{2+} в клетку в результате дефекта белков-переносчиков приводит к серьезным функциональным нарушениям её метаболизма и гибели. TRPM6 и его гомолог TRPM7 представляют собой связанные с α -киназой [5, 15] селективные каналы для двухвалентных катионов, активируемые при снижении цитозольных

уровней Mg^{2+} и его комплекса с АТФ [MgАТФ] [14]. TRPM6 и TRPM7 по-разному влияют на общую характеристику их совместного гетеромера TRPM6/7, однако в целом определяют активность этого канала при физиологических концентрациях Mg^{2+} и [MgАТФ] и его способность поддерживать постоянную доставку Mg^{2+} в организм.

Цель исследования – изучить структуру и свойства белковых каналов TRPM 6 и 7, и их роль в транспорте магния.

Описание

Белковые каналы TRPM6 и TRPM7 относятся к семейству транзиентных каналов рецепторного потенциала меластатинового типа (TRPM – transient receptor potential melastatin). Помимо TRPM, в суперсемействе TRP существуют другие рецепторы, классифицирующиеся в зависимости от типа вещества, образующего канал.

Белки TRPM6 и TRPM7 также входят в семейство α -киназ – группу протеинкиназ, у которых не выявлена гомология аминокислотной последовательности с обычными протеинкиназами [9]. α -киназы характеризуются уникальным способом распознавания субстрата исходными составляющими структурами – киназами тяжелой цепи миозина II (МНСК – myosin heavy chain kinase) [9] и киназой фактора элонгации 2 (киназа eEF-2) [13].

TRPM-каналы обладают широким спектром функций, включающих перенос двухвалентных ионов металлов: Mn^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Cd^{2+} [5, 15, 17], и др., однако преимущество отдается Ca^{2+} и Mg^{2+} .

TRPM7 экспрессируется во всех органах и тканях [12], в отличие от TRPM6, специфически локализованного в толстой кишке и дистальных извитых канальцах нефрона [3, 5]. Такое распределение подчеркивает роль TRPM6 в контроле гомеостаза Mg^{2+} в организме посредством абсорбции в кишечнике и резорбции в почках. По данным последних исследований предполагается, что TRPM7 больше контролирует гомеостаз Mg^{2+} на уровне внутриклеточного переноса [7].

Структура

TRPM6 представляет собой мембранный белок массой 234 кДа, N- и C-концы которого находятся в цитозоле [4], имеющий 6 трансмембранных доменов с функцией канала между трансмембранными доменами 5 и 6 [1], и примерно в 5 раз более высокое сродство к Mg^{2+} , чем к Ca^{2+} [4]. TRPM7 аналогично имеет 6 трансмембранных доменов с интернализированными как C-, так и N-концами, и с молекулярной массой 210 кДа.

Структура TRPM6 и TRPM7 имеют вид тетрамера. N-концевой участок состоит из четырех областей гомологов меластатина (MHR) и домена пре-S1 (TRPM6) или области гомологов (HR, TRPM7). Канальный домен содержит 6 трансмембранных сегментов (S1 – S6) и порообразующую петлю между сегментами S5 и S6. C-концевая область состоит из транзиентного рецепторного потенциала меластатина, доменов спиральных спиралей (CC – coiled-coil), серинтреониновых (S/T) и киназных доменов. Эти каналы образуют тетрамеры с

четырьмя субъединицами в гомомерной или гетеромерной форме [1, 15] и одновременно являются порами в мембране, позволяющими двухвалентным катионам транспортироваться через сформированный канал.

TRPM7 и его гомолог TRPM6 – единственные примеры ионных каналов, ковалентно интегрированных с киназами, обладающих атипичным S/T протеинкиназным доменом α -типа на COOH-конце, что в целом совместно с порами составляет основные компоненты, обеспечивающие функции TRPM7 [14].

Особенности киназного домена

Функциональная роль киназной части TRPM7 остается менее понятной.

Киназа TRPM7 специфична для АТФ и способна аутофосфорилироваться в районе S/T богатой области [8, 9], что сильно увеличивает скорость распознавания субстрата. TRPM6-киназа регулируется аналогичным механизмом, несмотря на отсутствие консервативности в последовательности с TRPM7 S/T доменом.

Биофизическая оценка мутаций, при которых отсутствует весь домен киназы, соответствует предположению, что ее интактный домен участвует в определении чувствительности канала TRPM7 к Mg^{2+} и [MgАТФ] [10], но не абсолютно необходим для данного эффекта [8].

TRPM6 и TRPM7 являются шанзимами (англ. chanzyme) – белками, включающими в свою структуру и канал, и атипичный домен киназы на С-конце [1, 13]. Протеолитическое расщепление TRPM7 приводит к высвобождению цитозольной киназы, которая впоследствии перемещается в ядро клетки и фосфорилирует гистоны. Это приводит к модуляции эпигенетической структуры хроматина и соответствующим эффектам на клетки [10].

Функции

TRPM6 обладает меньшим спектром функций в отличие от TRPM7, но от него зависит функциональная направленность TRPM7 в гетеромере и его трансфосфорилирование [2, 8]. Он обеспечивает поглощение Mg^{2+} и гомеостаз в почках и кишечнике [3, 5], а его мутация приводит к развитию гипوماгнемии и сопутствующей гипокальциемии. TRPM6 играет ключевую роль в построении комплекса каналов TRPM7/6, регуляции их функций. Данный белок активируется ионами Mg^{2+} , ингибируется рутениевым красным [2].

TRPM7 [2, 8] участвует во многих клеточных процессах: от контроля пролиферации клеток, до клеточной адгезии и миграции клеток. TRPM7 является критическим для хода развития организма, начиная с раннего эмбриогенеза, и, заканчивая поздним органогенезом. TRPM7 отвечает за гомеостаз магния (его транспорт внутрь клеток различных тканей и органов) и Ca^{2+} , жизнеспособность клеток [5]. Дефекты TRPM7 приводят к дегенеративным заболеваниям нейронов, тяжелым порокам нервной системы и смерти. Активируется [MgАТФ], распадом PIP2 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate), повышением концентрации цАМФ (циклический аденозинмонофосфат);

ингибируется Mg^{2+} , спермином, 2-APB (2-Aminoethoxydiphenyl borate), MnTBAP (Mn(III)tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin) [2].

Каналы TRP способствуют насыщаемому активному трансклеточному транспорту двухвалентных катионов из просвета кишечника в клетки [6], и канальная активность их гомомеров жестко регулируется не только внешними факторами активации, но и цитозольными уровнями Mg^{2+} и [MgATФ], таким образом, формируя тесную связь с клеточным метаболизмом.

Функциональные особенности

Сравнительный анализ сквозных токов в клетках TRPM6- и TRPM7-дефицитных мышей подтвердил концепцию, что TRPM6 в большей степени функционирует как составная часть гетеромерных TRPM6/7 каналов. При этом обнаружено, что mTRPM6 и mTRPM7 (mouseTRPM6, mouseTRPM7 – мышинные TRPM6, TRPM7) по-разному регулируют свойства гетеромерных каналов mTRPM6/7: в присутствии mTRPM7 чувствительность функционально экспрессируемого гомомерного mTRPM6 к Mg^{2+} настраивается на более высокие концентрации, в то же время, избавляя mTRPM7 от сильного ингибирования [MgATФ] [14], но одновременно TRPM6 может модулировать функцию TRPM7 [11]. Следовательно, ассоциация mTRPM6 с mTRPM7 обеспечивает высокую конститутивную активность mTRPM6/7 в присутствии физиологических уровней Mg^{2+} и [MgATФ], тем самым закладывая механическую основу для постоянного транспорта Mg^{2+} [5].

Кроме того, гомомерные TRPM6 и TRPM7, обладают разным функционалом: TRPM6 в большей степени проводит катионы Mg^{2+} , а TRPM7 в большей степени катионы Ca^{2+} . Только при образовании гетеромера TRPM6/7 либо преимущественной экспрессии TRPM6, усиливается транспортировка Mg^{2+} белковым каналом TRPM7, что также играет роль в регуляции минерального обмена клетки [14]. Однако данные белки не являются взаимозаменяемыми, что свидетельствует о функциональной избыточности этих каналов [11].

Выводы:

1. Благодаря функциональной активности TRPM6 и TRPM7, в клетку постоянно идет ток катионов Mg^{2+} , что обеспечивает метаболическую активность многих ферментов и структур, влияющих на рост и развитие организма.

2. Каналы TRPM6 и TRPM7 различаются: TRPM6 имеет два основных места локализации, в гомомерном состоянии больше переносит ионы Mg^{2+} , модулирует функцию TRPM7 в гетеромере, а TRPM7 экспрессируется во всему организму, играет роль в пролиферации, апоптозе клеток в гомомерном состоянии больше переносит ионы Ca^{2+} , оказывает эпигенетический эффект на генетический материал клетки.

3. Фосфорилирование играет критическую роль в контроле каталитической активности канальных киназ.

Список литературы:

1. A critical role of TRPM channel-kinase for human magnesium transport / Karl P. Schlingmann, Thomas Gudermann // *The Journal of Physiology*. – Volume 566. – Issue 2. – 2005. – P. 301-308.
2. A structural overview of the ion channels of the TRPM family / Yihe Huang, Ralf Fliegert, Andreas H. Guseb, Wei Lua, Juan Dua // Van Andel Institute. The Calcium Signaling Group, Department of Biochemistry and Molecular Cell Biology, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistrasse: *Cell Calcium*. – 2020. – № 85.
3. CELLULAR MAGNESIUM HOMEOSTASIS / Andrea M.P. Romani // *Arch Biochem Biophys*. HHS Author Manuscripts. – 2011. – № 512. – P. 1-23.
4. Genetics of Magnesium Disorders / Li H. a, Sun S. b, Chen J. a, Xu G. b, Wang H. b, Qian Q. c. // *Kidney Diseases*. – Volume 3. – Issue 3. – 2017.
5. InteractiveFly: GeneBrief . Transient receptor potential cation channel, subfamily M: Biological Overview | References / Thomas Brody, Ph.D. // *The Interactive Fly*. – 2020.
6. Intestinal Absorption and Factors Influencing Bioavailability of Magnesium- An Update / Jan Philipp Schuchardt and Andreas Hahn // *Curr Nutr Food Sci*. – Volume 13. – Issue 4. – 2017. – p. 260-278.
7. Intracellular magnesium homeostasis / Andrea M.P. Romani, Vink R., Nechifor M. // University of Adelaide Press: *Magnesium in the Central Nervous System*. – 2011.
8. Mass Spectrometric Analysis of TRPM6 and TRPM7 Phosphorylation Reveals Regulatory Mechanisms of the Channel-Kinases / Na Cai, Zhiyong Bai, Vikas Nanda, Loren W. Runnels // *Scientific Reports*. – Volume 7. – 2017.
9. Massive Autophosphorylation of the Ser/Thr-Rich Domain Controls Protein Kinase Activity of TRPM6 and TRPM7 / Kristopher Clark, Jeroen Middelbeek, Nick A. Morrice, Carl G. Figdor, Edwin Lasonder, Frank N. van Leeuwen // *PLOS ONE*. – 2008.
10. Role of kinase-coupled TRP channels in mineral homeostasis / Vladimir Chubanov, Lorenz Mittermeier, Thomas Gudermann // *Pharmacology & Therapeutics*. – Volume 184. – 2018. – p. 159-176.
11. The Channel Kinases TRPM6 and TRPM7 Are Functionally Nonredundant / Carsten Schmitz, Maxim V. Dorovkov, Xiaoyun Zhao, Bennett J. Davenport, Alexey G. Ryazanov, Anne-Laure Perraud // *The Journal of Biological Chemistry*. – Volume 280. – Issue 45. – 2005.
12. Transient receptor potential melastatin 6 and 7 channels, magnesium transport, and vascular biology: implications in hypertension / Rhian M. Touyz // *Heart and Circulatory Physiology*. – Volume 294. – Issue 3. – 2008. – p. H1103-H1118.
13. TRPM6 and TRPM7: A Multi-TRP-PLIK-Cation of Channel Functions / Loren W. Runnels // *Curr Pharm Biotechnol*. – Volume 12. – Issue 1. – 2018. – p. 42-53.
14. TRPM6 and TRPM7 differentially contribute to the relief of heteromeric TRPM6/7 channels from inhibition by cytosolic Mg²⁺ and [MgATP] / Silvia Ferioli,

Susanna Zierler, Joanna Zaißerer, Johann Schredelseker, Thomas Gudermann,
Vladimir Chubanov // Scientific Reports. – Volume 7. – Issue 8806. – 2017.

УДК 547.551.525.211.1-615.282.84

А.А. Русских, В.В. Новикова, В.Л. Гейн, О.В. Бобровская
СИНТЕЗ И ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ СЕРЕБРЯНОЙ
СОЛИ ЕНАМИНОЭФИРА 4-ХЛОРБЕНЗОИЛПИРОВИНОГРАДНОЙ
КИСЛОТЫ

Кафедра общей и органической химии
Кафедра микробиологии
Пермская государственная фармацевтическая академия
Пермь, Российская Федерация

SYNTHESIS AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SILVER SALT OF 4-
CHLOROBENZOYLPYROVIC ACID ENAMINOESTER

Department of General and Organic Chemistry
Department of Microbiology
Perm State Pharmaceutical Academy
Perm, Russian Federation

E-mail: vvnperm@yandex.ru

Аннотация. В статье рассмотрено получение серебряной соли метил (2Z)-4-оксо-2-{4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамоил]фениламино}-4-(4-хлорфенил)бут-2-еноата, изучена ее активность в отношении типовых представителей *Candida spp.* Установлено наличие высокой противогрибковой активности нового соединения, превышающей препараты сравнения.

Annotation. The article discusses the preparation of the silver salt of methyl (2Z)-4-oxo-2-{4-[(1,3-thiazol-2-yl)sulfamoyl]phenylamino}-4-(4-chlorophenyl)but-2-enoate and the study its activity to typical strains of *Candida spp.* The high antifungal activity of the new compound exceeding the reference drugs was established.

Ключевые слова: серебряная соль, енаминоэфиры, противогрибковая активность.

Key words: silver salt, enaminoesters, antifungal activity.

Введение

Противомикробный эффект лекарственных средств, содержащих серебро, известен давно и успешно используется в практической медицине: препараты Протаргол, Сиалор (серебра протеинат), Аргосульфам (серебряная соль сульфатиазола) и Дермазин (серебряная соль сульфадиазина) [2]. Механизм антимикробного действия ионов серебра связан с их взаимодействием с тиоловыми (сульфгидрильными) группами в ферментах и белках, а также